

Equilibre des oligoelements chez l'enfant phenylcetonurique traite. Consequences de la carence en selenium sur la peroxydation lipidique¹

Berenice Cunha Wilke², Michel Vidailher³, Marie Jeanne Richard⁴, Veronique Ducros⁴, Josianne Arnaud⁴ et Allain Favier⁵.

RESUME. Nous avons étudié le statut en Ca et Mg et en oligoéléments (Zn, Cu, Fe, Mn, Se), chez 15 enfants phénylcétonuriques (PCU) classiques équilibrés par un régime restrictif et chez 34 témoins. Les PCU ont une diminution significative ($p < 0.01$) du Se plasmatique et érythrocytaire et de l'activité de la Glutathion-Peroxydase (GSH-Px), enzyme sélénium-dépendante, dans le plasma et dans les érythrocytes. Cette effondrement de l'activité de la GSH-Px est accompagnée d'une augmentation de deux marqueurs de la peroxydation lipidique: le malonaldialdéhyde (MDA) et les hydroperoxydes organiques (H.P.O.). Il n'a pas été constaté de modification significative des autres minéraux étudiés. Cette étude attire l'attention sur la nécessité de supplémenter en Se les mélanges d'acides aminés, utilisés dans le traitement de la phénylcétonurie.

SUMMARY. Mineral balance in treated phenylketonuric children. Effects of selenium deficiency on lipid peroxidation. We studied Ca and Mg and trace elements (Zn, Cu, Fe, Mn, Se) in 15 P.K.U. children treated with strict Phe-reduced diet and in a control group. P.K.U. children are significantly lower ($p < 0.01$) plasma and erythrocyte Se as well as significantly lower ($p < 0.01$) activities of Glutathione-Peroxidase (GSH-Px), a seleno-dependent enzyme in erythrocytes and in plasma. Concomitantly with defective GSH-Px activities we observe significantly ($p < 0.01$) increased levels of lipid peroxidation products: malonaldehyde (MDA) and organic hydroperoxides (O.H.P.). So, Se supplementation appears to be necessary in low phenylalanine products used in P.K.U. treatment.

INTRODUCTION

La possibilité d'observer des déficits en oligoéléments chez l'enfant phénylcétonurique (PCU) soumis au régime restrictif, ont été rapportées par plusieurs auteurs (1 - 6).

Le régime des enfants PCU repose habituellement sur l'utilisation, jusqu'à 6 à 8 mois, d'un hydrolysate de protéines appauvri en phénylalanine (LOFENALAC[®]), relayé par un mélange d'acides aminés purs dépourvu de cet acide aminé (en France: MAXAMAID XP[®], PKU2[®], et AMINOGRAN[®]).

Ces aliments sont complétés par des protéines naturelles, au prorata de la tolérance en phénylalanine de chaque enfant, mais l'apport quotidien de ces protéines reste, en règle, inférieur à 8 grammes.

Ces substituts protéiques sont supplémentés en vitamines, minéraux et oligoéléments de façon variable d'un produit à l'autre. La biodisponibilité des oligoéléments rajoutés peut être différente de ce qu'elle est dans les aliments naturels: même en ajoutant une quantité a priori excessive de ces micronutriments, dépassant les besoins, le taux plasmatique et érythrocytaire peuvent ne pas être satisfaisants.

Des carences en Zn et en Cu ont ainsi été décrites chez les enfants PCU recevant un apport en ces oligoéléments correspondant pourtant aux valeurs indiquées dans les "Recommended Dietary Allowances" (R.D.A.) (3). Par ailleurs, les apports en Se sont, selon la majorité des études réalisées, très inférieurs aux besoins établis dans les R.D.A. (4-6).

Il nous a paru intéressant d'étudier les oligoéléments chez les enfants PCU soumis au régime restrictif et les conséquences éventuelles des carences observées.

POPULATION ETUDIEE

Cette étude a été réalisée chez 15 enfants (10 filles) atteints de PCU classique, âgés de 11 mois à 10 ans (âge moyen: $4a9m \pm 3a$), soumis à un apport journalier de phénylalanine inférieur à 2.400 mmol/jour. Le taux de phénylalanine plas-

1 Travail réalisé grâce à une bourse du CNPq du gouvernement brésilien
2 Chercheur au Service de Pédiatrie 3, C.H.U. de Nancy
3 Professeur de Pédiatrie à la Faculté de Médecine à l'Université de Nancy I
4 Biochimiste au Laboratoire de Biochimie "C", CHU de Grenoble.
5 Professeur de Chimie Biologique à l'Université de Grenoble.

matique de ces enfants, témoin du bon suivi du régime, est maintenu de façon régulière entre 120 et 300 mmol/l. Treize enfants ont comme produit de substitution protéique la MAXAMAID XP®. La composition minérale de la MAXAMAID XP® pour les minéraux étudiés est, par gramme d'acide aminé, de: Ca 0,7 µmol/g, Mg 0,3 µmol/g, Fe 7 µmol/g, Zn 6,6 µmol/g, Cu 1 µmol/g, Mn 0,9 µmol/g et Se 0 µmol/g. Deux autres enfants reçoivent le PHENYLSAN, qui assure un apport en Se d'environ 0,03 µmol/kg/jour (besoins R.D.A.: 0,025 à 0,06 µmol/kg/jour). Tous les enfants ont ces traitements depuis au moins 1 an au moment du début de l'étude. Les résultats sont comparés à ceux de 34 enfants témoins choisis parmi des enfants vus au Centre de Médecine Préventive. Ces enfants présentent un bon état nutritionnel et sont exempts de toute affection susceptible d'interférer avec les minéraux étudiés.

METHODES

15 ml de sang sont prélevés, après 12 heures de jeûne, dans des tubes dépourvus des minéraux étudiés (*héparinate de lithium*).

Les Zn, Cu, Fe, Mg et Ca du plasma et le Zn, Cu et Mg des érythrocytes sont dosés par spectrométrie d'émission en plasma induit par haute fréquence (ICP) (7). Le Se et le Mn plasmatiques sont dosés par spectrométrie d'absorption atomique par électrothermie (SAAE) (8). Le Se érythrocytaire est dosé par méthode de dilution isotopique (*chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse*) (9). L'activité de la GSH-Px plasmatique et érythrocytaire est mesurée par la méthode de Paglia et Valentine (10). Dans le plasma le MDA est dosé par la méthode de Yagi (11) et les H.P.O. par la méthode enzymatique de Heath et Tappel (12).

Les résultats obtenus ont été analysés statistiquement par les tests "t" de Student.

RESULTATS

Nous n'avons pas constaté de différence significative entre les teneurs en Zn, Cu, Fe, Ca et Mg plasmatiques et en Zn, Cu, et Mg érythrocytaires chez l'enfant PCU soumis au régime restrictif par rapport aux témoins. Par contre, le Se plasmatique et érythrocytaire sont significativement abaissés ($p < 0.01$) (Tableau 1).

Cette diminution du Se s'accompagne d'un effondrement de l'activité de la GSH-Px, enzyme sélénio-dépendante, dans le plasma et dans les globules rouges et de l'augmenta-

tion de deux marqueurs de la peroxydation lipidique: MDA et H.P.O. chez tous les enfants (Tableau 1). Même chez les enfants recevant un produit contenant du Se (PHENYLSAN), les résultats ont été similaires (Tableau 2).

DISCUSSION

L'étude des résultats obtenus dans le groupe d'enfants PCU soumis au régime restrictif en phénylalanine, donc en protéines naturelles, a montré des teneurs en Zn, Cu, Mg, Ca, Fe et Mn plasmatique et Zn, Cu et Mg érythrocytaire légèrement abaissées par rapport aux enfants témoins, mais ces différences ne sont pas significatives.

L'ensemble des aliments interdits, ou très limités, chez les enfants PCU (viande, poisson, oeufs, légumineuses, produits laitiers et céréales) est responsable de 93 à 96% de l'apport en Se chez l'individu normal (13). Entre 5 et 20 mois, la contribution de ces aliments à l'apport en Se de ces aliments interdits, ou très limités, est de 84% (6). Les 13 enfants PCU en régime restrictif recevant un substitut protéique non supplémenté en Se sont carencés en cet oligoélément. Cet fait explique les teneurs en Se plasmatique et érythrocytaire significativement inférieures aux valeurs des témoins.

Les 2 enfants qui ont reçu le mélange d'acides aminés responsable d'un apport a priori satisfaisant en Se pendant une période supérieure à 15 mois sont aussi carencés en Se, ce qui montre la nécessité d'une supplémentation avec des doses plus élevées.

Cette carence en Se est accompagnée d'un effondrement de l'activité de la GSH-Px plasmatique et érythrocytaire, enzyme qui contient du Se dans son site actif. Cette enzyme intervient dans la protection des lipides polyinsaturés vis-à-vis des dommages peroxydatifs (13-16).

La diminution de cette activité enzymatique est accompagnée de l'augmentation de deux marqueurs de la peroxydation lipidique: le MDA et les H.P.O.

Sur le plan clinique, le rôle de la carence en Se a été bien démontrée dans une myocardiopathie, la maladie de Keshan et dans une ostéoarthropathie, la maladie de Kashin-Beck. Par ailleurs, un lien a été mis en cause entre carence en Se et différentes affections (diminution de la force musculaire, déficits immunitaires, cancers et maladies cardiovasculaires par athérosclérose) (16-21).

EQUILIBRE DES OLIGOELEMENTS CHEZ L'ENFANT PHENYLCETONURIQUE TRAITÉ

TABLEAU 1
VALEURS MOYENNES \pm 1 ÉCART TYPE (My \pm 1ET) ET SIGNIFICATIVITÉ STATISQUE (p) DES RÉSULTATS PLASMATIQUES DES Zn, Cu, Mg, Ca, Fe, Mn, Se, GSH-Px, MDA ET HPO ET ÉRYTHROCYTAIRE DES Zn, Cu, Mg, Se ET GSH-Px CHEZ 15 ENFANTS PCU PAR RAPPORT AU GROUPE TÉMOIN

	Plasma		Erythrocytes	
	PCU (My \pm 1ET)	témoins (My \pm 1ET)	PCU (MY \pm 1ET)	témoins (My \pm 1ET)
Zn (μ mol/l)	12,7 \pm 2,3	12,8 \pm 2,1	150 \pm 18	152 \pm 24
Cu (μ mol/l)	17,6 \pm 2,2	18,5 \pm 3,1	8,0 \pm 2,6	8,1 \pm 2,0
Mg (μ mol/l)	0,77 \pm 0,09	0,81 \pm 0,08	2,0 \pm 0,2	2,2 \pm 0,3
Se (μ mol/l)	0,27 \pm 0,19*	0,99 \pm 0,31*	0,4 \pm 0,2*	1,1 \pm 0,4*
Ca (μ mol/l)	2,5 \pm 0,2	2,7 \pm 0,2		
Fe (μ mol/l)	13,1 \pm 6,6	14,4 \pm 6,5		
Mn (μ mol/l)	43 \pm 12	44 \pm 11		
GSH-Px* ¹	0,93 \pm 0,69*	2,64 \pm 0,42*	5,2 \pm 2,0*	10,1 \pm 1,6*
MDA (μ mol/l)	2,94 \pm 0,868	2,27 \pm 0,26*		
HPO (μ mol/l)	140 \pm 62*	103 \pm 27*		

NS = non significatif; *p<0,01; *¹ UI/g pr/mn dans le plasma et UI/ml/mn dans les érythrocytes

Nous n'avons constaté aucun signe clinique pouvant extérioriser la carence en Se constatée chez les enfants PCU traités. L'absence de carence ante-natale, de carence durant les premières mois de la vie lorsque les enfants reçoivent un hydrolysate de protéines contenant du sélénium, ainsi que la durée du régime limitée jusqu'ici entre 5 et 8 ans expliquent peut être l'absence apparente de retentissement clinique d'une carence pourtant manifeste. Cette tolérance apparente

ne préjuge cependant pas d'effets nocifs à moyen ou à long terme d'une peroxydation lipidique excessive.

Cette étude montre la nécessité de compléter l'alimentation des enfants PCU en Se. Cette supplémentation peut être réalisée soit par un apport spécifique séparé, soit, ce qui serait préférable, par une supplémentation directe des substituts protéiques utilisés.

TABLEAU 2
RÉSULTATS PLASMATIQUES DES Se, GSH-Px, MDA et HPO et ÉRYTHROCYTAIRE DES Se et GSH-Px CHEZ LES 2 ENFANTS PCU (PCU 1 et PCU 2) RECEVANT LE PRODUIT CONTENANT DU Se (PHENYLSAN)

	Plasma		Erythrocytes	
	PCU 1	PCU 2	PCU 1	PCU 2
Se (μ mol/l)	0,23	0,53	0,46	0,44
GSH-Px * ¹	1,6	2,5	8,8	6,9
MDA (μ mol/l)	3,1	3,0		
HPO (μ mol/l)	206	190		

* 1 UI/g pr/mn dans le plasma et UI/ml/mn dans les érythrocytes

REFERENCES

1. Wong R.G., P.B. Acosta, D. Jones & R. Koch. Mineral balance in treated phenylketonuric children. *J. Am. Diet. Assoc.*, 57:229-233, 1970
2. Lawson M. S., B. E. Claylon, H. T. Delves & J. D. Mitchell. Evaluation of a new mineral and trace metal supplement for use with synthetic diets. *Arch. Dis. Child.*, 52:62-67, 1977
3. Taylor C. J., G. Moore & D. C. Davidson. The effect of treatment on zinc, copper and calcium status in children with phenylketonuria. *J. Inher. metab. Dis.*, 7:160-164, 1984
4. Rottoli A., G. Lista, G. Zecchini, C. Butte & R. Longhi. Plasma selenium levels in treated phenylketonuric patients. *J. Inher. Metab. Dis.*, 8: 127-128, 1985
5. Zachara B.A., W. Wasowicz, J. Gromadzinska, M. Sklodowska & B. Cabalska. Red blood cell glutathione peroxidase activity as a function of selenium supplementation in dietary treated children with phenylketonuria. *Biomed. Biochim. Acta.*, 46: 209-213, 1987
6. Lombeck I., K.H. Ebert, K. Kasperek, L.E. Feinendegen & H.J. Bremer. Selenium intake of infants and young children, healthy children and dietetically treated patients with phenylketonuria. *Ernahrung/Nutr.*, 9:83-87, 1985
7. Menden E. E., D. Brockman, H. Choudhury & H.G. Petering. Dry ashing on animal tissues for atomic absorption spectrometric determination of zinc, copper, cadmium, lead, iron, manganese, magnesium and calcium. *Anal. Chem.*, 49:1644-1645, 1977
8. Neve J. & L. Molle. Direct determination of selenium in human serum by graphite furnace atomic absorption of selenium in human serum by graphite furnace atomic absorption spectroscopy. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 59:606-609, 1986
9. Reamer C. D. & C. Veillon. Determination of selenium in biological materials by stable isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 53:2166-2169, 1981
10. Paglia D. E. & W. N. Valentine. Studies on the quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. & Clin. Med.*, 70:158-169, 1967
11. Yagi K. Lipid Peroxidation. Assay for blood plasma or serum. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, 105, 328-331, 1984
12. Heath R. L. & A. L. Tappel. A new sensitive assay for the measurement of hydroperoxides. *Ann Biochem* 76, 184-191. 1976
13. Combs G. F. J. The role of selenium in nutrition. Ed by Academic Press, 340. 1986
14. Richter C. Biophysical consequences of lipid peroxidation in membranes. *Chem. Phys. Lipides*, 44:175-189, 1987
15. Ursini F. & A. Bindoli. The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes. *Chem. Phys. Lipides*, 44:255-276, 1987
16. Cohen G. & P. Hochstein. Glutathione Peroxidase: The primary agent for the elimination of hydrogen peroxide in erythrocytes. *Biochem.*, 2:1420-1428, 1963
17. Gu B. O. Q. Pathology of Keshan disease. Two hypotheses. *Chin. Med. J.*, 92:251-261 1983
18. He G. On the etiology of Keshan disease. Two hypotheses. *Chin. Med. J.*, 92:416-422, 1979
19. Salonen J. T., G. Alfthan, J. K. Huttunen & P. Puska. Association between serum selenium and the risk of cancer. *Amer. J. Epidemiol.*, 3:342-349, 1984
20. Salonen J. T., G. Alfthan, J. Pikkariainen J. K. Huttunen & P. Puska. Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matched-pair longitudinal study. *Lancet*, 24:175-179, 1982
21. Mansell P. I., F. Rawlings, S. P. Allison, A. Shenkin, G. Compton, S. Beck & E.F. Basseys. Reversal of a skeletal myopathy with selenium supplementation in a patient on home parenteral nutrition. *Clin Nutr.*, 6:179-183, 1987

Recibido: 21-11-1991
 Aceptado: 29-07-1992